

文章编号 :1009-038X(2003)04-0100-06

# 类胰岛素样生长因子-1 的研究进展及其色谱法分离

刘长江, 田晓艳, 岳喜庆, 李长彪

(沈阳农业大学 食品学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:**评述了应用色谱法对胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 进行理论研究、分析方法、分离、纯化和制备技术研究的新进展。

**关键词:**类胰岛素生长因子-1 理论研究 分析方法 分离 纯化

**中图分类号:**Q 51

**文献标识码:**A

## A Review Research Progress of Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) And Chromatography Methods in IGF-I Purification

LIU Chang-jiang, TIAN XIAO-yan, YUE Xi-qing, LI Chang-biao

(Food Science College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

**Abstract:** The article summarized the new progress of IGF-I in terms of the theoretical research, analysis method, separation, purification and preparation technology of using chromatography.

**Key words:** insulin-like growth factor-I; theoretical research; analysis method; separation; purification

胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 是一种由 70 个氨基酸组成的蛋白质, 相对分子质量 7 649<sup>[1]</sup>, 等电点 pI 约 8.2, 其结构与胰岛素原 (proinsulin) 相似<sup>[2]</sup>, 含有 3 个二硫键, 将肽链紧密的连接起来。几乎所有类型组织中都含有 IGF-1, 但主要来源于肝脏循环过程中。IGFs 家族通常连结在特定的蛋白质上, 即胰岛素样生长因子连接蛋白家族 (IGFBPs), 其中 IGFBP-3 蛋白与 IGF-1 构成复杂的三元空间结构, 并且该复合体连接有一个对酸不稳定的亚基 (ALS)。IGFBPs 在体液中可以延长 IGFs 的半衰期, 并且协助 IGFs 进入身体的各个部位。由于 IGFs 与 IGFBPs 具有高亲和性, 通过结合动力学的双向测量与计算, 发现在体液中游离形式的 IGFs 的量相当少, 不多于 1%<sup>[3,4]</sup>。IGF-1 的生理功能是: 它具有类似于胰岛素样的生物合成代谢功能<sup>[5]</sup>, 一方

面提高组织摄取葡萄糖的能力, 另一方面抑制肝糖原的分解并促进肝糖原及肌糖原的合成。IGF-1 本身又是生长激素的介质, 具有促进生长的作用<sup>[6]</sup>。现在发现 IGF-1 具有自分泌 (autocrine) 或旁分泌 (paracrine) 功能。许多肝外组织细胞能分泌 IGF-1 作用于自身或相邻的组织细胞, 促进 DNA 的合成和表达, 促进细胞生长和分裂。经研究发现, IGF-1 可用于多种疾病的治疗, 如 1,2 型糖尿病<sup>[7]</sup>, 生长激素受体缺乏病, 肾功能衰竭, 心脏病, 周围神经病变, 骨质疏松等<sup>[8,11]</sup>。在利用重组类胰岛素样生长因子 1 治疗肌营养不良性侧索硬化病方面, 国外已进入 3 期临床观察<sup>[12]</sup>。

1957 年, Salmon 和 Daughaday<sup>[13]</sup> 首次发现 IGF-1 和 IGF-2 能促进小鼠软骨组织对硫酸盐中 35S 的吸收, 当时命名为“硫酸化因子” (sulphation

收稿日期 2003-04-15; 修回日期 2003-05-19.

作者简介: 刘长江 (1955-), 男, 辽宁朝阳人, 教授, 工学硕士。

万方数据

factor). 1963年, Froesch等<sup>[14]</sup>将他们描述为具有不可抑制的胰岛素样活性物质(NSILA1 and 2). 1972年, 又将它们命名为“促生长因子”(Somatomedin)<sup>[15]</sup>. 1976年 Rinderknecht和 Humbel<sup>[16]</sup>从人血浆中分离出两种活性物质, 由于它们的结构与胰岛素原(proinsulin)相似, 重新将它们命名为“胰岛素样生长因子-1和胰岛素样生长因子-2”(IGF-1 and IGF-2). IGF-1是生长激素(GH)合成和促有丝分裂的介质<sup>[17]</sup>. 1978年, Rinderknecht和 Humbel<sup>[18,19]</sup>成功的鉴定 IGF-1和 IGF-2的结构和化学特性. 从20世纪50年代开始, 人们便开始用色谱法研究胰岛素家族, 至今已有很大的发展. 然而, 对其发展的综述并不多见<sup>[20,21]</sup>. 作者拟对目前的一些发展趋势进行简要的评述.

1952年 F. A. Robinson和 K. L. A. Fehr首次用纸色谱法检测了鱼精蛋白胰岛素锌盐中的胰岛素和前胰岛素. Sanger等利用纸层技术测定了牛胰岛素的氨基酸顺序并于1958年荣获诺贝尔奖. 此后, 逐渐发展为利用胰岛素的分配系数不同的经典分配层法, 利用胰岛素形状、大小特性进行分离的凝胶色谱法, 利用胰岛素电离特性的离子交换色谱法, 利用胰岛素的生物亲和特性不同的亲和色谱法. 这个时期(1952~1974)可称之为胰岛素的经典色谱法发展时期. 总的说来, 经典色谱法耗时长, 分离度不够满意, 回收率也不高. 但是, 这期间发展的亲和色谱具有选择性高, 回收率高等特点, 迄今仍被广泛应用着.

1957年, 当把高效液相色谱法技术(HPLC)用于分离和纯化蛋白及多肽取得成功之后, 人们自然想到利用这种新技术分离、纯化和分析各种胰岛素及其有关化合物. 由于HPLC技术具有速度快、精确度和回收率亦高等优点, 在分离、纯化和分析胰岛素类化合物方面愈加广泛得到应用. 1975年以后被称之为胰岛素的现代色谱发展期. IGF-1和 IGF-2的发展随胰岛素的发展而发展. 下面就对前人通过色谱法对胰岛素样生长因子的研究进行归纳总结如下:

## 1 基础理论研究

### 1.1 结构与功能

现今发现存在10种IGF-1, 其中包括7种哺乳动物和3种非哺乳脊椎动物的IGF-1<sup>[2]</sup>. 胰岛素样生长因子-1的化学结构 Rinderknecht和 Humbel<sup>[18,19]</sup>早在1978年就已经成功地阐述. IGF-1的一级结构由4个结构域构成, 即B域, C域, A域和

D域. 氨基末端的B区域B1-29, C区域C30-41, A区域A42-62, D区域D63-70<sup>[2]</sup>(见图1). 与胰岛素原不同的是, IGF-1的羧基末端比胰岛素原多一个D区域. IGF-1的氨基酸序列在不同的哺乳动物中相当保守, 据报道, 人IGF-1和牛IGF-1的氨基酸序列是完全一致的, 并且与大鼠(mouse)IGF-1的氨基酸序列相比, 只有4个氨基酸不同, 这表明它是一种由同原型基因进化而来的, 且具有重要功能的多肽. Geoffrey L. Francis等人在研究中发现, IGF-1还存在另一种形式, N端脱三肽IGF-1(-3N:IGF-1), 即N端缺少Gly-Pro-Glu三肽. 进一步研究证明, 牛和人的体内只存在一种IGF-1基因(Brisenden 1984), 这种-3N:IGF-1很可能是翻译或修饰的结果(Francis 1988). 对于牛-3N:IGF-1可以通过剪接mRNA来实现, 但对于人来说, 由于缺少IGF-1近N端的内含子-外显子铰合区域而不能实现(Rotwein 1986). -3N:IGF-1已经从牛初乳, 人脑及猪子宫(Francis 1988; Sara 1986)分离和纯化. -3N:IGF-1在刺激细胞异常肥大和增殖方面, 是IGF-110倍以上的潜力, 并且研究表明, -3N:IGF-1在刺激脑DNA合成方面, 比IGF-1更具有效力. 在培养MCF-7胸腺细胞过程中, 发现-3N:IGF-1的刺激作用比IGF-1强100倍(Ogasawara 1989).

原始的生长介质假说认为, 由垂体分泌的生长因子刺激合成和释放IGF-1, IGF-1再进一步作用于靶组织而发挥其促进机体生长的效应(Salmon 1957). 后来发现肝以外的组织也能产生IGF-1. Ercole等(1984)报道, 大鼠经生长因子(GH)处理后, 肝外组织中的IGF-1浓度在血清IGF-1升高以前就已经升高, 这一发现使人们认识到IGF-1可能还以自分泌或旁分泌的方式作用于局部组织细胞, 局部组织产生的IGF-1在调节生长中相当重要. Kerr等(1990)认为局部产生的IGF-1已足够维持动物的正常生长. Devol等(1990)对大鼠脚部肌肉的研究表明, 在GH缺乏的情况下, 增加工作负荷能诱导肌肉中IGF-1 mRNA水平增加, 促进肌肉增长<sup>[23]</sup>. 因此认为肌肉中IGF-1基因表达至少受到2种机制的调节, 一是受系统GH或其他激素的调节<sup>[21]</sup>, 另外还受到未知的局部因子的调节.

### 1.2 IGF-1结合蛋白

血液中的IGF-1绝大部分都与IGF-1结合蛋白(IGFBPs)结合在一起. IGFBPs家族的平均分子量约45Kda. 一些动物几乎没有测到任何游离的IGF-1<sup>[24]</sup>. IGFBPs不仅能延长IGF-1的半衰期, 避免了低血糖<sup>[20]</sup>, 也能协助IGF-1识别其靶组织. 同

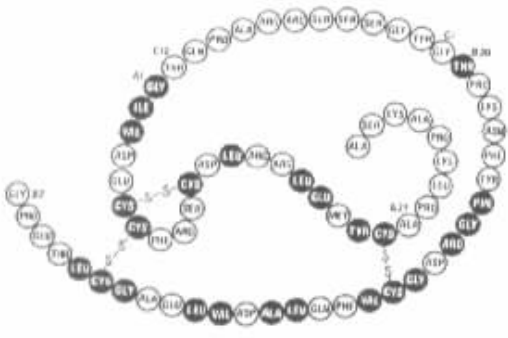


图 1 IGF-1 氨基酸序列

Fig.1 Amino acid sequence of IGF-1

时由于游离 IGF-1 的减少,阻止了 IGF-1 的胰岛素样作用,保护组织细胞免受 IGF-1 的促分裂作用. IGFBPs 对 IGFs (包括 IGF-1 和 IGF-2) 的亲合力高,但不与胰岛素结合. IGFBPs 一方面作为 IGFs 的运输载体,另一方面调节 IGFs 的有效浓度,最终影响 IGFs 的作用<sup>[25]</sup>. 在许多体内系统中观察到, IGF-1 的活性受 IGFBPs 的调节. IGF-1 的 B 结构域的 N 端和螺旋区参与了 IGF-1 与所有 IGFBPs 的结合<sup>[25]</sup>. 对该部位进行改变的突变体表现出促生长和代谢活力明显增加,可能原因是由于突变体与 IGFBPs 的亲合性大大降低,使游离 IGF-1 增加<sup>[26]</sup>. 至今,在哺乳动物中已发现 6 种 IGFBPs<sup>[27]</sup>, 分别命名为 IGFBP-1-6. IGFBPs 由 200-300 个氨基酸组成,从 IGFBPs 的一级结构可以看出,它们是相关蛋白家族的不同成员. 人的 IGFBP-1 由 234 个氨基酸组成,受胰岛素和 IGF-1 的调控<sup>[28]</sup>, 人的 IGFBP-2 由 289 个氨基酸组成. 哺乳动物的 IGFBP-2 与 GH 状态呈负相关,但只有在动物摄入正常热量的情况下, GH 才抑制 IGFBP-2<sup>[29]</sup>. IGFBP-3 是唯一受 GH 正调节的结合蛋白. 对于人类而言,几乎 88% 的循环 IGF-1 由 IGFBP-3 来完成运载作用. 一分子的 IGF-1,一分子的 IGFBP-3,一分子相对分子质量为 88 000 的对酸不稳定的蛋白质亚基共同构成了一个复杂的三维复合体<sup>[30]</sup>. IGFBP-3 主要受生长因子 (GH) 调控,同时也部分地受 IGF-1 调控<sup>[31]</sup>. 在猪血浆中, IGFBPs 以三元复合体的形式运载 70%~80% 的 IGF-1 (Evock, 1990). 在哺乳动物中还发现 IGFBP-4, IGFBP-5, IGFBP-6. 据报道在鱼类中也存在 IGFBP, Kelley 等 (1992) 运用 Western 杂交技术证明鱼中至少存在 3 种 IGFBPs: 一种较大的结合蛋白, 40 000~50 000; 两种较小的结合蛋白, 分别为 31 000 和 29 000. Mark J. Horney 等 (2001) 报道,在 N-端 Gly1, Pro2, 和 Glu3 连同

Phe49, Arg50, Ser51 一起形成 IGFBPs 的连接域,如图 2(左). 而 IGF-1 的受体在 IGF-1 上的连接域如图 2(右)<sup>[32]</sup>.

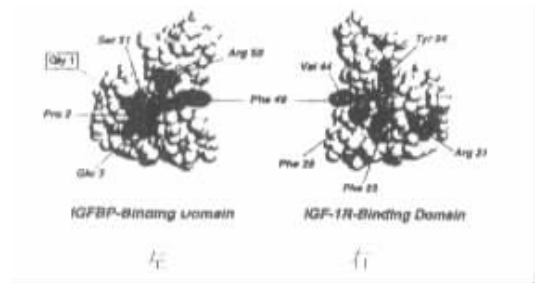


图 2 IGFBPs 连接域

Fig.2 IGFBPs Binding domain

2 胰岛素类色谱行为的基础研究

2.1 IGF-1 结构对其色谱保留行为的影响

IGF-1 在固液两相间的分配系数取决于 IGF-1 的暴露面积,并非某一局部的表面积,因而取决于它的三维空间结构 (见图 3). 其在键合相高效液相色谱 (BPC) 上的保留机理是: 当一分子溶剂化的 IGF-1 分子被溶剂化的键合相吸附时,在该分子与键合相之间,必然释放一定数目的溶剂分子,当键合相及流动相选定时,这一数目应取决于它与键合相的接触面积和其暴露在流动相中极性基个数及强度. 换句话说,取决于它的立体结构及极性的大小.

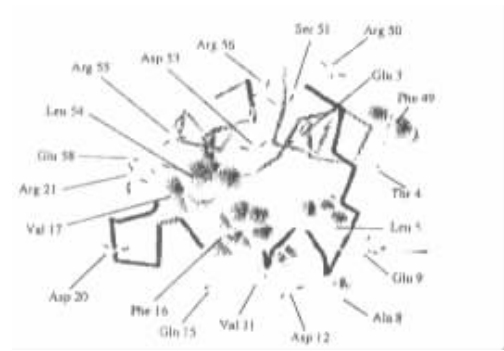


图 3 IGF-1 的三维空间结构

Fig.3 Three dimensional structures of IGF-1

2.2 键合相的影响

BPC 中的键合相自然是非极性的,而碳氟键相比碳氢键合相非极性要大的多. 但因前者价廉,所以应用最多. Rivier 在用一系列硫氢化合物键合在硅胶表面后,发现直链硅烷氢配位基中以直链 C<sub>4</sub> 为优. J. D. Pearson 报道了直链链长 (从 C<sub>2</sub> 到 C<sub>22</sub>) 保留值及分离度无显著影响,但 IGF-1 的回收率以

C<sub>18</sub>为佳.

2.3 流动相的影响

在 BPC 中,流动相的组成对 IGF-1 的分离度影响很大,有机溶剂一般选用乙醇乙酸,但绝大多数情况下选用乙腈作溶剂.在分离过程中,常用的离子对试剂为三氟乙酸,磷酸盐缓冲液,在绝大数分离条件下的 pH 是在 2~8 的范围内.

3 应用研究

3.1 不同种类 IGF-1 的分离和分析

IGF-1 是一个相对分子质量为 7 649,含有 70 个氨基酸残基的小分子蛋白质,等电点 pI 为 8.2. 分子由一条肽链组成,分 B,C,A,D 4 个肽域. B 域含有 29 个氨基酸残基,C 域含有 12 个氨基酸残基,

A 域 21 个氨基酸残基,D 域 8 个氨基酸残基,通过 3 个二硫键连接起来<sup>[21]</sup>. 人,牛,猪,豚鼠的 IGF-1 氨基酸序列是完全一致的(见图 4). 羊在 D66 位是丙氨酸,而人,牛,猪,豚鼠在 D66 位上是脯氨酸. 小鼠,大鼠在 B20,C36,D67 位上分别是脯氨酸,异亮氨酸,苏氨酸. 而人,牛,猪,豚鼠在 B20,C36,D67 位上分别是天冬氨酸,丝氨酸,丙氨酸. 另外,大鼠在 D68 上是丙氨酸,而其他 6 种哺乳动物的 IGF-1 在此位上为丝氨酸<sup>[20]</sup>. Bayne 等(1990)和 Clemmons 等.(1990)报道,IGF-1 的高度保守说明了在 3 亿年前脊椎动物进化时就已经精确的保留了下来. Ernst Rinderknecht 早在 1976 年,就对人的 IGF-1 进行分离和纯化,并对其氨基酸序列进行测序分析. 从 1980 年人们分别对鼠血浆、牛奶、鸡及绵羊和猪血浆中 IGF-1 和 2 的活性进行了测定、纯化、测序和活性鉴定.

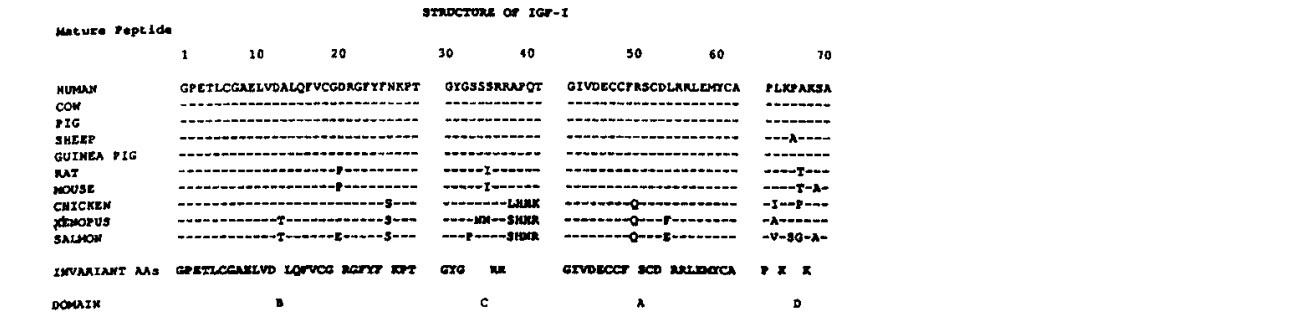


图 4 不同种类 IGF-1 的结构

Fig.1 Structures of different IGF-1

从 20 世纪 80 年代,人们开始“半人工合成”或 DNA 重组来生产提纯 IGF-1,不论从血浆,组织或牛奶等物质中直接提取,还是从基因表达的发酵液中提纯,它们的纯化都离不开色谱法.

3.2 IGF-1 分析检测

无论用什么方法提取的 IGF-1,包括天然,人工合成或 DNA 重组而得到的 IGF-1,都应对其进行分析检测.通常采用的是放射免疫测定(RIA).在进行 RIA 测定之前,用酸-乙醇对待测样品进行提取处理以去除 IGF-1 连接蛋白的干扰<sup>[33]</sup>. 现举例说明:取 200  $\mu$ L 样品或检测缓冲液用 800  $\mu$ L 酸/乙醇在 25  $^{\circ}$ C 处理 30 min. 样品和空白在 3 500 g 条件下离心 30 min,得到 500  $\mu$ L 上清液,用 200  $\mu$ L Tris 中和. 吸取 20~30  $\mu$ L 上述中和液用检测缓冲液调到 100  $\mu$ L,加入 100  $\mu$ L 单克隆抗体 3DI/2/1 和 0.1  $\mu$ g<sup>125</sup>I

标记的 IGF-1 在 4  $^{\circ}$ C 条件下培养 24 h 之后,加入标准大鼠血浆和羊-抗大鼠  $\gamma$ -球蛋白. 在 4  $^{\circ}$ C 条件下培养 30 min,再加入聚乙二醇(PEG),3 500 g 离心 30 min. 吸取上清液倒掉,对沉淀进行  $\gamma$ -放射活性测定<sup>[34]</sup>. 现在普遍采用 IGF 放射免疫试剂盒进行测定,简便易操作,并节省了大量的时间.

3.3 IGF-1 的色谱法提取

国内外市场对于高纯度胰岛素样生长因子-1 的需求量在日益增加,不论是天然来源的,半人工合成的或 DNA 重组产生的 IGF-1,最终都需要对其进行分离和纯化.因此,高效、低成本、制备规模的分离和纯化一直是生物化学科学工作者们追求的目标.研究能耐高压、容量大、分离度高且价廉的各种固定相,包括亲和色谱、离子交换色谱、反相色谱以及新近发展起来的疏水色谱填料,发展制备和

工业规模分离和纯化胰岛素类物质的设备及工艺流程,无疑是今后的主攻方向之一. 为便于查阅,选用了不同种类 IGF-1 的色谱分离和纯化方法,重要色谱条件及文献分别列入表 1.

表 1 分离方法举例  
Tab.1 Examples of separation methods

| 化合物                             | 色谱条件                                   |                                                         | 文献 |
|---------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------|----|
|                                 | 柱                                      | 流动相                                                     |    |
| 1 从人血浆中提取 IGF-1                 | C <sub>18</sub>                        | CH <sub>3</sub> CN+0.1% TFA                             | 34 |
| 2 从人血浆中提取 IGF-1                 | 单克隆抗体-亲和剂                              | 吸附 Sm 细胞产生的抗体 洗脱:磷酸盐缓冲液 pH7.4                           | 35 |
| 3 从人血浆中提取 IGF-1                 | Pep RPC HR 5/5                         | CH <sub>3</sub> CN+0.1% TFA                             | 36 |
| 4 从人血浆中提取 IGF-1                 | 交联葡聚糖 G <sub>50</sub>                  | 0.25M 蚁酸                                                | 37 |
| 5 从 Cohn fraction IV 膏中提取 IGF-1 | UBondapak-C <sub>18</sub>              | CH <sub>3</sub> CN+0.1% TFA 0%~80% 梯度                   | 38 |
| 6 从牛初乳中提取 IGF-1                 | Sep-Pak C <sub>18</sub>                | 50% CH <sub>3</sub> CN/0.1% TFA                         |    |
| 7 在细菌中表达的人 IGF-1 的提取            | TSK ODS-120T                           | 0.1% TFA 平衡 CH <sub>3</sub> CN 线性梯度洗脱                   | 39 |
| 8 牛奶中 IGF-1 的提取                 | 交联葡聚糖 G <sub>25</sub> ,G <sub>75</sub> | 磷酸盐缓冲液/乙酸                                               |    |
| 9 牛初乳中提取 IGF-1                  | 磺丙基葡聚糖 C <sub>18</sub>                 | 0.1% TFA+10% CH <sub>3</sub> CN pH 2.1                  |    |
| 10 重组人 IGF-1 的提取                | Vydac C <sub>18</sub>                  | 0.1% TFA+28% CH <sub>3</sub> CN                         | 40 |
| 11 从血清中提取羊 IGF-1                | 交联葡聚糖 G <sub>50</sub>                  | 50mmol/L Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> +0.01% TritonX | 41 |
| 12 从 E. Coli 培养液中提取人 IGF-1      | Silica 有孔玻璃柱                           | 乙醇+0.5 mol/L NaCl pH 7                                  | 42 |
| 13 E. Coli 培养液对银鲟鱼 IGF-1 的提取    | DEAE-52                                | 乙酸铵 pH 4.8                                              | 44 |
| 14 由成鼠肝细胞原始培养液提取 IGF-1          | Waters I-125                           | 0.1 mol/L 乙酸+0.1 mol/L 三甲胺 pH 2.8                       | 27 |

参考文献：

[1] Michael B Ranke,Ulla Feld-Rasmussen,Peter-Bang,*et al.* How should insulin-like growth factor I be measured[J]. **Horm Res**, 2001,55 :106 – 109.

[2] Rene E HUMBEL. Review insulin-like growth factors 1 and 2[J]. **J Biochem**,1990,190 :445 – 462.

[3] Ranke MB,Elmlinger M. Functional role of insulin-like growth factor binding proteins[J]. **Horm Res**, 1997,48 :9 – 15.

[4] Baxter RC. Inhibition of the insulin-like growth factor (IGF)-IGF-binding protein interaction[J]. **Horm Res**, 2001,55 :68 – 72.

[5] Fraesch ER. IGF-1 and IGF-2 in vivo and in vitro effects. In Labrie F,Prulc L(eds). **Endocrinology**[M]. New York :Elsevier Science Publishers,1984. 475.

[6] Schoenle E. Insulin-like growth factor 1 stimulates growth in gypophsectomized rats[J]. **Nature**,1982,296 :252.

[7] Pablo FD, De La Rose EJ. The developing CNS :a scenario for the retions of proinsulin insulin and insulin-like growth factors[J]. **Trends Neuro Sci**,1995,18 :143 – 150.

[8] 许光武,俞茂华,叶红英,等. 小剂量牛初乳短链胰岛素样生长因子-1 可改善糖尿病大鼠周围神经病变 [J]. **中华内分泌代谢杂志**,2000,16(4) :231 – 234.

[9] 游利,俞茂华. 牛初乳短链胰岛素样生长因子-1 对糖尿病大鼠肾脏的维持作用及其机制研究 [J]. **中华肾脏病杂志**,2000,16(4) :251 – 255.

[10] 叶红英,俞茂华. 牛初乳短链 IGF-1 对糖尿病大鼠心肌超微结构的影响 [J]. **上海医科大学学报**,1998,25(2) :108 – 110.

[11] 白秀英,李平风. 甲状旁腺素 IGF-1 可加速成骨样细胞 ROS17/2.8 增殖周其的进程 [J]. **细胞生物学杂志**,1999,21(2) :75 – 78.

[12] Lewis M E,Neff N T. Insulin-like growth factor 1 :potential for treatment of motor neuronal disorder[J]. **Exp Neurol**,1993,

124 73-88.

- [13] Salmon W D, J Daughaday W. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro [J]. *J Lab Clin Med*, 1957, 49 825-836.
- [14] Froesch E R, Burgi H. Antibody-suppressible and nonsuppressible insulin-like activities in human serum and their physiologic significance. An insulin assay with adipose tissue of increased precision and specificity [J]. *J Clin Invest*, 1963, 42 1816-1834.
- [15] Daughaday WH, Hallk. Somatomedin: a proposed designation for the sulfation factor [J]. *Nature*, 1972, 235 107.
- [16] Rinderknecht E, Humbel R E. Polypeptides with nonsuppressible insulin-like and cell-growth promoting activities in human serum: isolation, chemical characterization, and some biological properties of forms 1 and 2 [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1976, 73 2365-2369.
- [17] Brissenden J, Ullrich A, Francke U. Human chromosomal mapping of genes for insulin-like growth factors 1 and 2 and epidermal growth factor [J]. *Nature*, 1984, 310 781-784.
- [18] Rinderknecht E, Humbel R E. Primary structure of human insulin-like growth factor 2 [J]. *FEBS Lett*, 1978, 89 283-286.
- [19] Rinderknecht E, Humbel R E. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor 1 and its structural homology with proinsulin [J]. *J Biol Chem*, 1978, 253 2769-2776.
- [20] Rene E H. Review insulin-like growth factors 1 and 2 [J]. *Eur J Biochem*, 1990, 190 445-462.
- [21] Peter Rotwein. Mini-Review structure, evolution, expression and regulation of insulin-like growth factors 1 and 2 [J]. *Growth Factors*, 1991, 5 3-18.
- [22] Kerr D E. Effects of passive immunization of growing guinea-pigs with an insulin-like growth factor-1 monoclonal antibody [J]. *Endocrinol*, 1990, 124 403-415.
- [23] Devol D L. Activation of insulin-like growth factor gene expression during work-induced skeletal muscle growth [J]. *AM J Physiol*, 1990, 259 89-95.
- [24] Evock C M. Effect of GH status on IGF-1 and IGF-2 concentrations and serum IGF-binding profiles in pigs [J]. *J Anim Sci*, 1990, 68 1963-1964.
- [25] Cascieri M A, Bayne M L. Analysis of the interaction of IGF-1 analogs with the IGF-1 receptor IGF binding protein. In LeRoith D, Razada MK, eds. *Current Directions in Insulin-like Growth Factor Research* [M]. New York: Plenum Press, 1994.
- [26] 王萍, 冯佑民. 类胰岛素生长因子-1 和胰岛素表现其功能的结构和分子基础 [J]. *生物化学与生物物理进展*. 1999, 26 (6) 525-527.
- [27] Scott C D, Martin J L, Baxter R C. Production of insulin-like growth factor 1 and its binding protein by adult rat hepatocytes in primary culture [J]. *Endocrinology*, 1985, 116(3) 1094-1101.
- [28] Laron Z, Suikkari A, Klinger B, et al. Growth hormone and insulin-like growth factor regulate insulin-like growth factor-binding protein-1 in Larm type dwarfism, growth hormone deficiency and constitutional short stature [J]. *Acta Endocrinol*, 1992, 127 351-358.
- [29] Clemmons D R, Unolterwood L E. Nutritional regulation of IGF-1 and IGF-binding proteins [J]. *Annu Rev Nutr*, 1991, 11 393-412.
- [30] Lewitt M S, Sanders H. Complex formation by human insulin-like growth factor-binding protein-3 and human acid-labile subunit in growth hormone-deficient rats [J]. *Endocrinology*, 1994, 134 2402-2409.
- [31] Kanety, Karasik A, Klinger B, et al. Long-term treatment of Larm type dwarfs with insulin-like growth factor 1 increases serum insulin-like growth factor-binding protein 3 in the absence of growth hormone activity [J]. *Acta Endocrinol*, 1993, 128 144-149.
- [32] Mark J Horney, Caroline A Evangelista, Steven A, et al. Synthesis and characterization of insulin-like growth factor photo-probes selective for the IGF-binding proteins (IGFBPs) [J]. *J Biological Chemistry*, 2001, 276(4) 2880-2889.
- [33] Campbell P G, Baumrucker C R. Insulin-like growth factor-1 its association with binding proteins in bovine milk [J]. *J Endocrinol*, 1989, 120, 21-29.
- [34] David G Klapper, Marjorie E. Sequence analysis of somatomedin-c: Confirmation of identity with insulin-like growth factor 1 [J]. *Endocrinology*, 1983, 112(6) 2215-2217.
- [35] Chernauek S D, Chatelain P G. Efficient purification of somatomedin-C/insulin-like growth factor 1 using immunoaffinity chromatography [J]. *Biochem and Biophys Res Commun*, 1985, 126 282-288.
- [36] Pfeifle B, Maier V, Ditschuneit H. Insulin-like growth factor 1/somatomedin-C: a rapid isolation procedure with FPLC [J]. *Preparative Biochemistry*, 1985, 15(5) 291-307.

此外,在速溶茶生产中,传统的方法是通过萃取将茶叶中的有效成分提取出来,然后浓缩、干燥

制成粉状速溶茶<sup>[23,24]</sup>.采用超微粉碎仅需一步工序便可得到粉茶产品,大大简化了生产工序.

## 参考文献:

- [1] Howard G B. Modern Methods of Particle Size Analysis[M]. John Wiley & Sons 1984 :5-10.
- [2] 张立德.超微粉碎制备与应用技术[M].北京 中国石化出版社,2001.23-77.
- [3] 郑水林.超细粉碎原理、工艺设备及应用[M].北京 中国建材工业出版社,1993.142-292.
- [4] 陆厚根.粉体工程导论[M].上海 同济大学出版社,1992.43-78.
- [5] 郑水林.粉体表面改性[M].北京 中国建材工业出版社,1995.9-18.
- [6] Kaye B H, Clark G G, Leblance J E. Image analysis proceduress for characterizing the fractal dimension[J]. **Particle characteristic**, 1987,(4) :120-125.
- [7] Young B D, Bryson A W, Van vliet B M. An evaluation of the technigue of polygonal harmonics for the characterization of particle shape[J]. **Powder technol**, 1990,63 :157-159.
- [8] 袁惠新,俞建峰,崔政伟,等.超微粉碎技术及其在食品加工中的应用[J]. **农机及食品机械**,1999,(5) :32-34.
- [9] 庞声海.低温升超微粉碎机及其研究[J]. **食品与机械**,1996,(1) :9-12.
- [10] 庄志发,季斌,冯紫惠.细胞级超微粉碎的研究应用[J]. **山东食品发酵**,2000,(3) :37-39.
- [11] 高福成.现代食品高新技术[M].北京 中国轻工业出版社,1997.1-44.
- [12] 孙君社,马林,刘海.牡蛎壳和花生壳的超微粉碎及表征[J]. **中国食物与营养**,2000,(5) :26-28.
- [13] 董文彦,张东平,孙元智.超微颗粒钙在大鼠体内的吸收和利用[J]. **营养学报**,1998,(1) :31-34.
- [14] 崔玉敏,张炳然,袁勤生.SOD 在模拟小鼠胃肠道环境中的稳定性研究[J]. **中国生化药物杂志**,1994,(2) :82-84.
- [15] 郭连魁.系统解剖学图析[M].北京 人民卫生出版社,1993.
- [16] [美]拉希,[美]柏克.运动学和应用解剖学[M].北京 人民体育出版社,1985.
- [17] 北京大学生理学教研室.基础生理学[M].北京 人民教育出版社,1979.
- [18] 陈学存.应用营养学[M].北京 人民卫生出版社,1984.
- [19] Castelli M. A population at risk :prevaluke of high cholesterol levels in hypertensive patients in the framingham study[J]. **American Journal of Medicine**, 1986,80 :23-32.
- [20] Shils M E. Magnesium in health and discaase[J]. **In Annul Review of Nutrition**, 1988.
- [21] 崔政委,王有伦,陆振曦.新型巧克力精磨机的研究[J]. **包装与食品机械**,1996,(14) :4-6.
- [22] 叶明泉,李春俊,刘东升,等.鲜骨加工技术研究进展[J]. **食品工业科技**,1999,(1) :34-36.
- [23] 林泽.食品超微粉的开发与应用[J]. **食品与机械**,1996,(5) :30-32.
- [24] 段道怀.超微粉碎技术——一项有发展前途的新技术[J]. **农牧产品开发**,1996,(5) :3-5. (责任编辑 朱 明)

## (上接第 105 页)

- [37] Petro E Petrides, Raymond L. An improved method for the purification of human insulin-like growth factors 1 and 2[J]. **Endocrinology**, 1986,86 :2034-2038.
- [38] Morrell D J, Ray K P. Somatomedin C :simplified purification procedure and biological activities of purified growth factor[J]. **J Endocr**,1986,110 :151-158.
- [39] Tomas Moks, Lars Abrahmsen. Expression of human insulin-like growth factor 1 in bacteria[J]. **Biochemistry**, 1987,26 :5239-5244.
- [40] Elcanor Canova-davis,Marian Eng. Chemical heterogeneity as a result of hydroxylamine cleavage of a fusion protein of human insulin-like growth factor 1[J]. **Biochem J**,1992,285 :207-213.
- [41] L G Moore, M E Mylek. A novel method for the extraction of sheep insulin-like growth factors-1 and 2 from plasma prior to radioimmunoassay[J]. **J Endocrinology**,1993,137 :239-245.
- [42] David H Reifsnyder, Charles V Olson. Purification of insulin-like growth factor-1 and related proteins using underivatized silica [J]. **J Chromatography**, 1996,A753 :73-80.
- [43] F John Ballard, John C Wallace, Geoffrey L. Des(1-3) IGF-1 :a truncated form of insulin-like growth factor-1[J]. **Int J Biochem Cell Biol**,1996, 28(10) :1085-1087.
- [44] Shunsake M Y, Stephen J Duguay. Recombinant coho salmon insalin-like growth factor I expression in escherichia coli, purification and characterization[J]. **Eur J Biochem**,1993,218 :205-211. (责任编辑 杨 萌)